

PAT-NO: JP410099083A

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 10099083 A

TITLE: GLUTAMATE TRANSPORTER

PUBN-DATE: April 21, 1998

INVENTOR-INFORMATION:

NAME

KONO, TSUYOSHI

TAKUWA, KYOKO

INT-CL (IPC): C12N015/09, C07H021/04 , C07K014/435

ABSTRACT:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a new gene coding a glutamic acid transporter of arthropod, thus to be used for producing a glutamic acid transporter useful for developing reagents for neural transmission system research to study cerebral nerve system, medicines and agrochemicals or the like.

SOLUTION: This new gene, which codes a glutamic acid transporter of arthropod including Diptera insects such as *Drosophila melanogaster*, is useful as a reagent for neural transmission system research to widely study cerebral nerve system, or as a reagent affording new approaches for developing medicines and agrochemicals using glutamic acid analogs. This gene is obtained by screening the cDNA library of *Drosophila melanogaster* by the use of

an
indicator, i.e., glutamic acid intake when *Xenopus* oocyte is expressed
and then
by recovering the aimed DNA from the positive clones.

COPYRIGHT: (C)1998,JPO

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平10-99083

(43)公開日 平成10年(1998) 4月21日

(51)Int.Cl. ⁴	識別記号	F I	
C 1 2 N 15/09	Z N A	C 1 2 N 15/00	Z N A A
C 0 7 H 21/04		C 0 7 H 21/04	B
C 0 7 K 14/435		C 0 7 K 14/435	
// (C 1 2 N 15/09	Z N A		
C 1 2 R 1:91)			

審査請求 未請求 請求項の数11 書面 (全 15 頁)

(21)出願番号	特願平8-290990	(71)出願人	000001904 サントリー株式会社 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号
(22)出願日	平成8年(1996) 9月27日	(72)発明者	河野 強 大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号 財団法人サントリー生物有機科学研究所 内
		(72)発明者	宅和 京子 大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号 財団法人サントリー生物有機科学研究所 内

(54)【発明の名称】 グルタメートトランスポーター

(57)【要約】

【課題】 新たなグルタミン酸トランスポーターの提供

【解決手段】 ショウジョウバエ (*D. melanogaster*) のcDNAライブラリーより、アフリカツメガエル[®]の卵母細胞に発現させた際のグルタミン酸の取り込みを指標として、配列番号1および2の配列式で示される、グルタミン酸トランスポーターをコードするcDNAを単離した。

【効果】 本発明によれば、新たなグルタミン酸トランスポーター遺伝子およびこれらのcDNAでコードされるグルタミン酸トランスポーターを提供することができ、脳神経系を研究するための神経伝達系研究用の試薬として用いることができる。また本発明のcDNAを、常法に従ってCHO細胞等の動物培養細胞中で発現させ、そのグルタミン酸トランスポーター活性を測定することにより、グルタミン酸トランスポーターのアクセシ系を構築することができ、本発明はグルタミン酸アナログを用いた医薬および農薬等の開発に新たなアプローチを与えるものである。

【特許請求の範囲】

【請求項1】節足動物のグルタミン酸トランスポーター遺伝子。

【請求項2】節足動物が昆虫綱に属する昆虫である特許請求の範囲第1項に記載のグルタミン酸トランスポーター遺伝子。

【請求項3】節足動物が双翅目昆虫である、特許請求の範囲第1項に記載のグルタミン酸トランスポーター遺伝子。

【請求項4】節足動物がショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) である、特許請求の範囲第1項に記載のグルタミン酸トランスポーター遺伝子。

【請求項5】配列番号1のDNA配列で示されるDNAを含む特許請求の範囲第1項に記載のグルタミン酸トランスポーター遺伝子。

【請求項6】配列番号2のDNA配列で示されるDNAを含む特許請求の範囲第1項に記載のグルタミン酸トランスポーター遺伝子。

【請求項7】配列番号3のアミノ酸配列を含むグルタミン酸トランスポーター。

【請求項8】配列番号3のアミノ酸配列に対して、1～数個のアミノ酸の付加、除去または置換により修飾されているアミノ酸配列を含むグルタミン酸トランスポーター。

【請求項9】配列番号4のアミノ酸配列を含むグルタミン酸トランスポーター。

【請求項10】配列番号4のアミノ酸配列に対して、1～数個のアミノ酸の付加、除去または置換により修飾されているアミノ酸配列を含むグルタミン酸トランスポーター。

【請求項11】特許請求の範囲第1項ないし第6項に記載のグルタミン酸トランスポーター遺伝子を培養細胞中で発現させ、そのグルタミン酸トランスポーター活性を測定することを特徴とする、グルタミン酸トランスポーター活性阻害物質のスクリーニング方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、節足動物のグルタミン酸トランスポーターと、それをコードする遺伝子およびその遺伝子の利用に関する。

【0002】

【従来の技術】興奮性アミノ酸であるグルタミン酸の能動輸送を担うグルタミン酸トランスポーターは、脳神経系に関する研究のターゲットとして、哺乳動物を中心として精力的に研究されている。

【0003】例えば、ヒト、ラット、ウサギ、ウシより、分子生物学的手法を用いて、グルタミン酸トランスポーターの構造が明らかにされている。(Biochim. Biophys. Act Vol. 1216, 16 50

1-164, 1993, Nature vol. 360, 464-467, 1992, Nature Vol. 360, 467-471, 1992, Mol. Brain Res. Vol. 28, 343-348, 1995)

【0004】一方、無脊椎動物は、その神経系が哺乳動物に較べて単純であることから、神経生理学的な研究に広く用いられているが、その無脊椎動物のグルタミン酸トランスポーターに関する研究は、殆ど報告されておらず、わずかに、本発明者らによる線虫のグルタミン酸トランスポーターに関する特許出願(特願平8-081833)がある程度にすぎない。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】脳神経系の研究に際しては、さらに多くの動物種を研究材料とすることが必要とされている現状に鑑み、全く研究の行われていない節足動物のグルタミン酸トランスポーターの構造を明らかにし、グルタミン酸の輸送機構を研究する上での新たな手段を与えると共に、農薬等の開発のための新たなアプローチを与えることが、本発明が解決しようとする課題である。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者等は、ショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) のcDNAライブラリーより、アフリカツメガエルの卵母細胞に発現させた際のグルタミン酸の取り込みを指標として、グルタミン酸トランスポーターをコードする遺伝子を単離すべく鋭意研究を行い、配列番号3および4のペプチドをコードする、配列番号1および2の配列を含むcDNAを単離し、その生物活性を確認して、本発明を完成した。

【0007】即ち、本発明によれば、無脊椎動物のグルタミン酸トランスポーター遺伝子として、配列番号1および2の配列を含むcDNAを提供することができ、またこのcDNAでコードされるアミノ酸配列を含む、グルタミン酸トランスポーターを提供することができる。また、本発明中には、配列番号3または4のアミノ酸配列に対して、1～数個のアミノ酸の付加、除去または置換により修飾されているアミノ酸配列を含むペプチドも、グルタミン酸トランスポーター活性を有する限り、含むことができる。

【0008】さらに、本発明のcDNAは、常法に従ってこれをCHO細胞等の動物培養細胞中で発現させ、そのグルタミン酸トランスポーター活性を測定することにより、グルタミン酸トランスポーター阻害剤のアッセイ系を構築することができる。

【0009】

【発明の実施の形態】この遺伝子にコードされる新規タンパク質は、グルタミン酸トランスポーター活性を有するタンパク質であり、ショウジョウバエ (*D. mel*

anogaster)を材料として、以下の方法によりその構造を明らかにできる。例えば、ショウジョウバエよりmRNAを調製し、2本鎖cDNAを合成する。次いで、このcDNAをプロモーター配列を有するベクターに挿入し、cDNAライブラリーを構築する。このライブラリーより約100から500クローンからなるプールを作製し、それぞれのプールよりDNAを調製する。得られたDNAを鋳型としてcRNAを合成する。

【0010】合成したcRNAをコラゲナーゼ処理したアフリカツメガエルの卵母細胞に注入し、ND96バッファ中で20度で24~48時間培養する。続いて、卵母細胞を14Cラベルされたグルタミン酸を含むND96バッファに移し、20度で約1時間培養後、洗浄し、液体シンチレーションカウンターで14Cラベルされたグルタミン酸の取り込み量を測定する。有意にグルタミン酸の取り込みを上昇させたプールより、上述の検定法を用いて単一のクローンを得る。得られたクローンの塩基配列を決定することにより、遺伝子にコードされているタンパク質の構造を明らかにする。

【0011】

【作用】本発明のタンパク質は、アフリカツメガエルの卵母細胞に発現させた場合に、グルタミン酸の取り込みを上昇させるタンパク質であり、同様の活性を有する哺乳動物由来のタンパク質との相同性は低い。さらに、本タンパク質は、グルタミン酸の取り込みを上昇させるものとしては節足動物において最初の例である。このことから、本発明のタンパク質は、広く脳神経系を研究するための神経伝達系研究用の試薬としてだけでなく、医薬および農薬等への新たなアプローチを与える有用な試薬として利用することができる。

【0012】

【実施例】次に実施例によって本発明をさらに説明するが、本発明の範囲はこれらにのみ限定されるものではない。

【0013】実施例1. グルタミン酸トランスポーターをコードするショウジョウバエ遺伝子の単離

a. cDNAライブラリーの構築

ショウジョウバエの成虫約2gを液体窒素中で急速冷凍した後、粉碎し、AGPC法を用いてtotal cellular RNAを調製した。次いで、oligo(dT)₃₀ (宝酒造)を用いて、mRNAを調製した。この様にして得られたmRNA5μgより、TimeSaver™ cDNA Synthesis KitおよびDirectional Cloning Toolbox (Pharmacia社)を用いて2本鎖cDNAを合成後、挿入部位の上流に発現プロモーターでSP6配列を有するファージベクターλEx CellのEcoRIおよびNotI部位に連結し、GIGA PAK GOLD (Stratagene社)を用いてファージ粒子を形成させ、cDNAライブラリ

ーを得た。得られたライブラリーの一部を用いてライブラリーサイズを決定したところ、約 2×10^6 pfuであった。

【0014】b. ファージプールの作製

a. で得られたcDNAライブラリーより、約500 pfuを宿主菌である大腸菌NM522に感染させ、37℃で約20分間培養した。次いで、50℃に保温してある0.7%のアガロースを含むNZCY培地3mlを加え、円形シャーレ中の1.5%のアガロースを含むNZCY培地に重層し、37℃で14時間培養した。続いて、5mlのSM培地を重層し、4℃で14時間緩やかに浸透した後、ファージ粒子を含むSM培地を回収し、ファージプールとした。同様にして上記のファージプールを100個作製した。

【0015】c. ファージDNAの調製

各ファージプールより約10000 pfuを宿主菌NM522に感染させ、37℃で約20分間培養した。次いで、50℃に保温してある0.7%のアガロースを含むNZCY培地3mlを加え、円形シャーレ中の1.5%のアガロースを含むNZCY培地に重層し、37℃で8時間培養した。続いて、5mlのSM培地を重層し、4℃で14時間緩やかに浸透した後、ファージ粒子を含むSM培地を回収した。次いで、Lambda Kit (Qiagen社)を用いてファージDNAを調製した。

【0016】d. cRNAの合成

c. で得られたファージDNAを制限酵素NotI (宝酒造)で消化し、プロテアーゼK (Boehringer Mannheim社)を用いてタンパク質を分解した。次いで、フェノール/クロロホルム抽出を2回行い、イソプロピルアルコール沈殿を経て、DNAを精製した。このDNAを鋳型として、mMESSAGE mMACHINE™ (Ambion社)を用いてcRNAを合成し、フェノール/クロロホルム抽出、イソプロピルアルコール沈殿を経てcRNAを精製した。得られたcRNAをジエチルピロカーバネート処理した滅菌水に1mg/mlになるように溶解した。

【0017】e. アフリカツメガエル卵母細胞の調製

アフリカツメガエルのメスの腹部を切開し、卵母細胞の塊を取り出した。この卵塊をND96培地をいれたシャーレ内に入れ、卵塊の房を裂いた後、培地を除去し、コラゲナーゼTypeII (Sigma社)を0.2%含むND96培地を加え、室温で約1時間処理した。コラゲナーゼ溶液を除去し、ND96培地で3回卵母細胞を洗浄した後、ピンセットで卵母細胞のfollicular cellsを除いた。

【0018】f. アフリカツメガエル卵母細胞へのcRNAの注入

d. で調製したcRNAを70℃で10分間熱処理し、氷上で急冷した後、e. で調製した卵母細胞に約50n

1ずつ注入した。cRNA注入にはオートインジェクターピペット NANOJECT 203-X型 (Drummond社)を用い、各試料につき15個の卵母細胞に注入した。cRNAを注入した卵母細胞をND96培地中で20度で2-3日間培養した。

【0019】g. グルタミン酸の取り込み量の測定

f. で培養した卵母細胞を各試料につき5個選び、Nucleon60穴プレート (Nunc社)に移し、ND96培地を0.5mlずつ加える。次いで、L- (U-¹⁴C) グルタミン酸 (Amersham社; CFB65) を30μlずつ加え混合し、約1時間室温で培養した。続いて、培養液を除去後、氷冷したND96培地で5回洗浄し、個々の卵母細胞を1.5ml容エッペンドルフチューブに移し、0.1% SDSを0.5ml加えて、ホモジネートした。これを液体シンチレーションカウンター用のバイアルLS VIAL (Packard社)に移し、液体シンチレーターACS II (Amersham社) 10mlを加え、攪拌後、液体シンチレーションカウンターにて¹⁴C-グルタミン酸を計測した。

【0020】h. クローンの単離

a. からf. の操作によって得られた活性を示すファージアールより、任意に2000個のファージを拾い、個々について同様にDNAを調製後、先述の手順と同様にして、活性を示す単一のクローンを複数個得た。

【0021】i. 塩基配列の決定

得られたクローンより、M13ユニバーサルプライマーを用いて挿入断片をPCR法によって増幅し、MicroSpin™ S-400HR カラム (Pharmacia社製)を用いて増幅されたDNAを精製した。続いて、精製したDNA溶液4μlを鋳型とし、M13ユニバーサルプライマーおよびDye Deixy Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems社製)を用いてダイデオキシ反応を行った。次いで、反応物をQuich Spin™ (TE) カラム (Boehringer Mannheim社製)を用いて精製し、乾固後、95%ホルムアミド溶液4mlに溶解した。この溶液を90℃で3分間加熱し、氷冷後、電気泳

動に供した。電気泳動は、373A-18型 DNA Sequencer (Applied Biosystems社製)を用いて実施した。全長の塩基配列を得るために、得られた塩基配列を基にプライマーDNAを392型 DNA/RNA Synthesizer (Applied Biosystems社製)を用いて合成し、同様に塩基配列分析を行った。

【0022】j. 塩基配列の解析

得られた塩基配列は、遺伝子情報処理ソフトウェアGENETYX-MAC (ソフトウェア開発株式会社)を用いて解析し、コードされているタンパク質のアミノ酸配列を決定した。

【0023】

【発明の効果】本発明のDNAは、ショウジョウバエ (*D. melanogaster*) 由来のグルタミン酸トランスポーターをコードする遺伝子であり、アフリカツメガエル卵母細胞に発現させた場合に、グルタミン酸の取り込みを増強するトランスポーター活性を示す。また、本発明のDNAがコードするタンパク質は、節足動物において得られた最初のグルタミン酸トランスポーターの例である。

【0024】また、本発明のDNAは、グルタミン酸トランスポーター遺伝子を培養細胞中で発現させ、そのグルタミン酸トランスポーター活性を測定することにより、グルタミン酸トランスポーター活性阻害物質のスクリーニング方法を提供することができる。さらに、本発明のDNAがコードするタンパク質は、広く脳神経系を研究するための神経伝達系研究用の試薬としてだけでなく、グルタミン酸アナログを用いた医薬および農薬等の開発に新たなアプローチを与える有用な試薬として利用することができる。

【配列表】

【0025】配列番号: 1

配列の長さ: 1419

配列の型: 核酸

配列の種類: cDNA

起源:

生物名: ショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*)

7

配列:

ATG GCG GCA AGT TCA AGG CTT TCA TGC AGG AGA ATG TCC TCA CCA TGG	48
Met Ala Ala Ser Ser Arg Leu Ser Cys Arg Arg Met Ser Ser Pro Trp	16
CCA CCG TTA TCG GTG TGT TTG TTG GTG GAC TCA TCG GCT TCA TCA TCA	96
Pro Pro Leu Ser Val Cys Leu Leu Val Asp Ser Ser Ala Ser Ser Ser	32
AAA ATA GCA CTG GCG AGT GGT CGA AGA GAG AGA TCA TGT ACA TAT CCT	144
Lys Ile Ala Leu Ala Ser Gly Arg Arg Glu Arg Ser Cys Thr Tyr Pro	48
TCC CCG GCG AAG ATT TTC TTG CGA ATG CTT AAA TGT TTG ATT GTG CCG	192
Ser Pro Ala Lys Ile Phe Leu Arg Met Leu Lys Cys Leu Ile Val Pro	64
CTT TTG GTC TCA TCA ATC ACC AGT GCC ATT GGT GGA CTC GAC CTG AGC	240
Leu Leu Val Ser Ser Ile Thr Ser Ala Ile Gly Gly Leu Asp Leu Ser	80
ATG TCC AGC AAG ATT GCT ACC AGA GCC ATT ACT TAC TAC TTT GTG ACC	288
Met Ser Ser Lys Ile Ala Thr Arg Ala Ile Thr Tyr Tyr Phe Val Thr	96
ACC ATA TCG GCC GTG ATT CTG GGA ATA TGT CTG GTG ACC ACA CTG CGT	336

Thr Ile Ser Ala Val Ile Leu Gly Ile Cys Leu Val Thr Thr Leu Arg	112
CCC GGC CAG GGA GCC AAG ATC GTG GAG ACC CAG ACG GAG ACC ATT GAT	384
Pro Gly Gln Gly Ala Lys Ile Val Glu Thr Gln Thr Glu Ser Ile Asp	128
AAG GCA TCG AAG GTG CTC ACC CCA GAC ACG CTT ATG GAT TTG GTG CGA	432
Lys Ala Ser Lys Val Leu Thr Pro Asp Thr Leu Met Asp Leu Val Arg	144
AAC ATG TTC ACG GAC AAC ATC ATT CAG TCG ACC ATG TTC CAG CAC CGC	480
Asn Met Phe Thr Asp Asn Ile Ile Gln Ser Thr Met Phe Gln His Arg	160
ACT GAG ATC TAT GAG AAC ACT AGC ATT AGC CCA GCA CAG CCT ATG GAA	528
Thr Glu Ile Tyr Glu Asn Thr Ser Ile Ser Pro Ala Gln Pro Met Glu	176
AAC TGG GAG TTC AAG TCG GCT CAG CGC GAG GGT TCT AAT GTC CTG GGT	576
Asn Trp Glu Phe Lys Ser Ala Gln Arg Glu Gly Ser Asn Val Leu Gly	192
CTT GTG ATG TTC AGT GTT ATC CTA GGT ACC ACC ATT GGA AGA ATG CGG	624
Leu Val Met Phe Ser Val Ile Leu Gly Thr Thr Ile Gly Arg Met Arg	208
GAG AAG GGA CAA CTT CTG CAG GAT TTC TTC ACC ACA CTG AGC GAA GCA	672
Glu Lys Gly Gln Leu Leu Gln Asp Phe Phe Thr Thr Leu Ser Glu Ala	224
ATG ATG ACC ATC ACC TCA TGG GTT ATT TGG ATT TCC CCG CTG GGT GTT	720
Met Met Thr Ile Thr Ser Trp Val Ile Trp Ile Ser Pro Leu Gly Val	240
GCC TTC CTG ATA GCC GCC AAG ATT ATT GAG ATG GAA TCG ATA GCA GCA	768
Ala Phe Leu Ile Ala Ala Lys Ile Ile Glu Met Glu Ser Ile Ala Ala	256

11

ACG ATT CAG TCA TTA GGA TGG TAT TTC ATA ACG GTC ATG ATA GGT CTA	816
Thr Ile Gln Ser Leu Gly Trp Tyr Phe Ile Thr Val Met Ile Gly Leu	272
TTC CTT CAC GGT TTT GGT ACG ATT GCG GTG ATC TTT TTC CTG GGC ACC	864
Phe Leu His Gly Phe Gly Thr Ile Ala Val Ile Phe Phe Leu Gly Thr	288
CGA CGT CTC CCG TAC CGC TAT ATT GCC AAG CTT AGT CAG GTC CTG GCA	912
Arg Arg Leu Pro Tyr Arg Tyr Ile Ala Lys Leu Ser Gln Val Leu Ala	304
ACT GCA TTT GGA ACA GGT TCC AGC TCG GCC ACC ATG CCG CTG ACC ATC	960
Thr Ala Phe Gly Thr Gly Ser Ser Ser Ala Thr Met Pro Leu Thr Ile	320
AAG TGC TTG GAC AAC ATG GGC ATC GAT CCG CGG GTC ACT CGT TTT GTC	1008
Lys Cys Leu Asp Asn Met Gly Ile Asp Pro Arg Val Thr Arg Phe Val	336
ATT CCC GTG GGT GCC ACT ATT AAC ATG GAC GGA ACG GCT CTC TAT GAG	1056
Ile Pro Val Gly Ala Thr Ile Asn Met Asp Gly Thr Ala Leu Tyr Glu	352
GCT GTG GCT GCT CTG TTC ATC GCC CAA TAC CGT GAG ATG AGC TAT TCC	1104
Ala Val Ala Ala Leu Phe Ile Ala Gln Tyr Arg Glu Met Ser Tyr Ser	368
TTC GGC ACC ATT GTG GCC GTC AGC ATA ACA GCC ACG GCG GCA TCG ATT	1152
Phe Gly Thr Ile Val Ala Val Ser Ile Thr Ala Thr Ala Ala Ser Ile	384
GGA GCT GCT GGA ATC CCG CAG GCT GGA CTT GTT ACC ATG GTC ATG GTG	1200
Gly Ala Ala Gly Ile Pro Gln Ala Gly Leu Val Thr Met Val Met Val	400
CTG GAC ACA GTG GGC TTG GAG CCG AAG GAT GTG TCC CTC ATC ATA GCC	1248
Leu Asp Thr Val Gly Leu Glu Pro Lys Asp Val Ser Leu Ile Ile Ala	416
GTC GAT TGG CTA CTG GAT CCG TTC CGC ACC ACC ATT AAT GTA ATG TGC	1296
Val Asp Trp Leu Leu Asp Arg Phe Arg Thr Thr Ile Asn Val Met Cys	432
GAT GCT CTA GCC ACT ATT TTG GTT AAC CAT CTG TCG AAA AAT GAT TTG	1344
Asp Ala Leu Gly Thr Ile Leu Val Asn His Leu Ser Lys Asn Asp Leu	448
GCC AGC GTG GAT AGG CTG AAT GCC GAG CCC CAT GAG CTC CTC GAG CTG	1392
Ala Ser Val Asp Arg Leu Asn Ala Glu Pro His Glu Leu Leu Glu Leu	464
GGA CCC AAT GGC CAC GAG ATG AAG GAA	1419
Gly Pro Asn Gly His Glu Met Lys Glu	473

【0026】配列番号: 2

配列の長さ: 954

配列の型: 核酸

配列の種類: cDNA

*起源:

生物名: ショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*)

*

配列:

ATG TTC CAG CAC CGC ACT GAG ATC TAT GAG AAC ACT AGC ATT AGC CCA	48
Met Phe Gln His Arg Thr Glu Ile Tyr Glu Asn Thr Ser Ile Ser Pro	16
GCA CAG CCT ATG GAA AAC TGG GAG TTC AAG TCG GCT CAG CGC GAG GGT	96
Ala Gln Pro Met Glu Asn Trp Glu Phe Lys Ser Ala Gln Arg Glu Gly	32
TCT AAT GTC CTG GGT CTT GTG ATG TTC AGT CTT ATC CTA GGT ACC ACC	144
Ser Asn Val Leu Gly Leu Val Met Phe Ser Val Ile Leu Gly Thr Thr	48
ATT GGA AGA ATG CGG GAG AAG GGA CAA CTT CTG CAG GAT TTC TTC ACC	192
Ile Gly Arg Met Arg Glu Lys Gly Gln Leu Leu Gln Asp Phe Phe Thr	64
ACA CTG AGC GAA GCA ATG ATG ACC ATC ACC TCA TGG GTT ATT TGG ATT	240
Thr Leu Ser Glu Ala Met Met Thr Ile Thr Ser Trp Val Ile Trp Ile	80
TCC CGC CTG GGT GTT GCC TTC CTG ATA GCC GCC AAG ATT ATT GAG ATG	288
Ser Pro Leu Gly Val Ala Phe Leu Ile Ala Ala Lys Ile Ile Glu Met	96
GAA TCG ATA GCA GCA ACG ATT CAG TCA TTA GGA TGG TAT TTC ATA ACG	336
Glu Ser Ile Ala Ala Thr Ile Gln Ser Leu Gly Trp Tyr Phe Ile Thr	112
CTC ATG ATA GGT CTA TTC CTT CAC GGT TTT GGT ACG ATT GCG GTG ATC	384
Val Met Ile Gly Leu Phe Leu His Gly Phe Gly Thr Ile Ala Val Ile	128
TTT TTC CTG GGC ACC CGA CGT CTC CCG TAC CGC TAT ATT GCC AAG CTT	432
Phe Phe Leu Gly Thr Arg Arg Leu Pro Tyr Arg Tyr Ile Ala Lys Leu	144
AGT CAG GTC CTG GCA ACT GCA TTT GGA ACA GGT TCC AGC TCG GCC ACC	480
Ser Gln Val Leu Ala Thr Ala Phe Gly Thr Gly Ser Ser Ser Ala Thr	160
ATG CCG CTG ACC ATC AAG TGC TTG GAC AAC ATG GGC ATC GAT CCG CGG	528
Met Pro Leu Thr Ile Lys Cys Leu Asp Asn Met Gly Ile Asp Pro Arg	176
GTC ACT CGT TTT GTC ATT CCC GTG GGT GCC ACT ATT AAC ATG GAC GGA	576
Val Thr Arg Phe Val Ile Pro Val Gly Ala Thr Ile Asn Met Asp Gly	192

15	16
ACG GCT CTC TAT GAG GCT GTG GCT GCT CTG TTC ATC GCC CAA TAC CGT	624
Thr Ala Leu Tyr Glu Ala Val Ala Ala Leu Phe Ile Ala Gln Tyr Arg	208
GAG ATG AGC TAT TCC TTC GGC ACC ATT GTG GCC GTC AGC ATA ACA GCC	672
Glu Met Ser Tyr Ser Phe Gly Thr Ile Val Ala Val Ser Ile Thr Ala	224
ACG GCG GCA TCG ATT GGA GCT GCT GGA ATC CCG CAG GCT GGA CTT GTT	720
Thr Ala Ala Ser Ile Gly Ala Ala Gly Ile Pro Gln Ala Gly Leu Val	240
ACC ATG GTC ATG GTG CTG GAC ACA GTG GGC TTG GAG CCG AAG GAT CTG	768
Thr Met Val Met Val Leu Asp Thr Val Gly Leu Glu Pro Lys Asp Val	256
TCC CTC ATC ATA GCC GTC CAT TGG CTA CTG GAT CCG TTC GGC ACC ACC	816
Ser Leu Ile Ile Ala Val Asp Trp Leu Leu Asp Arg Phe Arg Thr Thr	272
ATT AAT GTA ATG TGC GAT GCT CTA GGC ACT ATT TTG GTT AAC CAT CTG	864
Ile Asn Val Met Cys Asp Ala Leu Gly Thr Ile Leu Val Asn His Leu	288
TCG AAA AAT GAT TTG GCC AGC GTC GAT AGG CTG AAT GCC GAG CCC CAT	912
Ser Lys Asn Asp Leu Ala Ser Val Asp Arg Leu Asn Ala Glu Pro His	304
GAG CTC CTC GAG CTG GGA CCC AAT GGC CAC GAG ATG AAG GAA	954
Glu Leu Leu Glu Leu Gly Pro Asn Gly His Glu Met Lys Glu	318

【0027】配列番号: 3

配列の長さ: 473

配列の型: アミノ酸

配列の種類: ペプチド

*起源:

30 生物名: ショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*)

*

17

配列:

Met	Ala	Ala	Ser	Ser	Arg	Leu	Ser	Cys	Arg	Arg	Met	Ser	Ser	Pro	Trp	16
1				5					10					15		
Pro	Pro	Leu	Ser	Val	Cys	Leu	Leu	Val	Asp	Ser	Ser	Ala	Ser	Ser	Ser	32
			20					25					30			
Lys	Ile	Ala	Leu	Ala	Ser	Gly	Arg	Arg	Glu	Arg	Ser	Cys	Thr	Tyr	Pro	48
		35					40					45				
Ser	Pro	Ala	Lys	Ile	Phe	Leu	Arg	Met	Leu	Lys	Cys	Leu	Ile	Val	Pro	64
		50				55				60						
Leu	Leu	Val	Ser	Ser	Ile	Thr	Ser	Ala	Ile	Gly	Gly	Leu	Asp	Leu	Ser	80
65					70					75				80		
Met	Ser	Ser	Lys	Ile	Ala	Thr	Arg	Ala	Ile	Thr	Tyr	Tyr	Phe	Val	Thr	96
			85						90				95			
Thr	Ile	Ser	Ala	Val	Ile	Leu	Gly	Ile	Cys	Leu	Val	Thr	Thr	Leu	Arg	112
			100					105					110			
Pro	Gly	Gln	Gly	Ala	Lys	Ile	Val	Glu	Thr	Gln	Thr	Glu	Ser	Ile	Asp	128
		115					120					125				
Lys	Ala	Ser	Lys	Val	Leu	Thr	Pro	Asp	Thr	Leu	Met	Asp	Leu	Val	Arg	144

130

135

140

145 150 155 160

165

170

175

180

185

190

195

200

205

210

215

220

225

230

235

240

245

250

255

260

265

270

275

280

285

21	22	
Arg Arg Leu Pro Tyr Arg Tyr Ile Ala Lys Leu Ser Gln Val Leu Ala		304
290	295	200
Thr Ala Phe Gly Thr Gly Ser Ser Ser Ala Thr Met Pro Leu Thr Ile		320
305	310	315
Lys Cys Leu Asp Asn Met Gly Ile Asp Pro Arg Val Thr Arg Phe Val		336
325	330	335
Ile Pro Val Gly Ala Thr Ile Asn Met Asp Gly Thr Ala Leu Tyr Glu		352
340	345	350
Ala Val Ala Ala Leu Phe Ile Ala Gln Tyr Arg Glu Met Ser Tyr Ser		368
355	360	365
Phe Gly Thr Ile Val Ala Val Ser Ile Thr Ala Thr Ala Ala Ser Ile		384
370	375	380
Gly Ala Ala Gly Ile Pro Gln Ala Gly Leu Val Thr Met Val Met Val		400
385	390	395
Leu Asp Thr Val Gly Leu Glu Pro Lys Asp Val Ser Leu Ile Ile Ala		416
405	410	415
Val Asp Trp Leu Leu Asp Arg Phe Arg Thr Thr Ile Asn Val Met Cys		432
420	425	430
Asp Ala Leu Gly Thr Ile Leu Val Asn His Leu Ser Lys Asn Asp Leu		448
435	440	445
Ala Ser Val Asp Arg Leu Asn Ala Glu Pro His Glu Leu Leu Glu Leu		464
450	455	460
Gly Pro Asn Gly His Glu Met Lys Glu		473
465	470	473

【0028】配列番号: 4

配列の長さ: 318

配列の型: アミノ酸

配列の種類: ペプチド

* 起源:

生物名: ショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*)

*

23

配列:

Met	Phe	Gln	His	Arg	Thr	Glu	Ile	Tyr	Glu	Asn	Thr	Ser	Ile	Ser	Pro	16
1				5				10					15			
Ala	Gln	Pro	Met	Glu	Asn	Trp	Glu	Phe	Lys	Ser	Ala	Gln	Arg	Glu	Gly	32
			20					25					30			
Ser	Asn	Val	Leu	Gly	Leu	Val	Met	Phe	Ser	Val	Ile	Leu	Gly	Thr	Thr	48
		35					40					45				
Ile	Gly	Arg	Met	Arg	Glu	Lys	Gly	Gln	Leu	Leu	Gln	Asp	Phe	Phe	Thr	64
	50					55					60					
Thr	Leu	Ser	Glu	Ala	Met	Met	Thr	Ile	Thr	Ser	Trp	Val	Ile	Trp	Ile	80

(14)

特開平10-99083

65	25	70	75	80	
Ser Pro Leu Gly Val Ala Phe Leu Ile Ala Ala Lys Ile Ile Glu Met					96
	85		90	95	
Glu Ser Ile Ala Ala Thr Ile Gln Ser Leu Gly Trp Tyr Phe Ile Thr					112
	100		105	110	
Val Met Ile Gly Leu Phe Leu His Gly Phe Gly Thr Ile Ala Val Ile					128
	115		120	125	
Phe Phe Leu Gly Thr Arg Arg Leu Pro Tyr Arg Tyr Ile Ala Lys Leu					144
	130		135	140	
Ser Gln Val Leu Ala Thr Ala Phe Gly Thr Gly Ser Ser Ser Ala Thr					160
	145		150	155	160
Met Pro Leu Thr Ile Lys Cys Leu Asp Asn Met Gly Ile Asp Pro Arg					176
	165		170	175	
Val Thr Arg Phe Val Ile Pro Val Gly Ala Thr Ile Asn Met Asp Gly					192
	180		185	190	
Thr Ala Leu Tyr Glu Ala Val Ala Ala Leu Phe Ile Ala Gln Tyr Arg					208
	195		100	205	
Glu Met Ser Tyr Ser Phe Gly Thr Ile Val Ala Val Ser Ile Thr Ala					224
	210		215	220	

(15)

特開平10-99083

27
 Thr Ala Ala Ser Ile Gly Ala Ala Gly Ile Pro Gln Ala Gly Leu Val 240
 225 230 235 240

Thr Met Val Met Val Leu Asp Thr Val Gly Leu Glu Pro Lys Asp Val 256
 245 250 255

Ser Leu Ile Ile Ala Val Asp Trp Leu Leu Asp Arg Phe Arg Thr Thr 272
 260 265 270

Ile Asn Val Met Cys Asp Ala Leu Gly Thr Ile Leu Val Asn His Leu 288
 275 280 285

Ser Lys Asn Asp Leu Ala Ser Val Asp Arg Leu Asn Ala Glu Pro His 304
 290 295 300

Glu Leu Leu Glu Leu Gly Pro Asn Gly His Glu Met Lys Glu 318
 305 310 315 318